

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 468 120

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 79 25839

(54)

Cellule de mesure et dispositif automatique de microélectrophorèse analytique.

(51)

Classification internationale (Int. Cl.³). G 01 N 27/28, 33/48 / A 61 B 10/00.

(22)

Date de dépôt..... 17 octobre 1979.

(33) (32) (31)

Priorité revendiquée :

(41)

Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 18 du 30-4-1981.

(71)

Déposant : Etablissement public dit : INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE, résidant en France.

(72)

Invention de : Marcel Tollet et Domagoj Sabolovic.

(73)

Titulaire : *Idem* (71)

(74)

Mandataire : Cabinet Chéreau et Rodès réunis,
107, bd Pereire, 75017 Paris.

1.

La présente invention concerne une cellule pour la mesure de la mobilité électrophorétique de particules, et un dispositif automatique de microélectrophorèse analytique utilisant une telle cellule pour la mesure et l'analyse
5 de la mobilité électrophorétique de particules ou de cellules vivantes en suspension dans une veine liquide, notamment pour le diagnostic de maladies et la détection précoce des affections malignes.

On sait, depuis les travaux de Reuss, que des particules ou des cellules vivantes, mises en suspension dans
10 un milieu ionique, portent une charge électrique, de sorte que, placées dans un champ électrique, elles migrent vers l'une des deux électrodes appliquant ce champ. La méthode d'électrophorèse analytique consiste à déterminer la vitesse qu'acquière ainsi les particules ou les cellules.
15

Dans le domaine particulier, mais non limitatif, de la biologie, cette méthode permet d'étudier différents types de cellules ou de microorganismes vivants et notamment les modifications de surface induites par l'action de
20 virus, de bactéries, d'enzymes ou de divers antigènes, tant endogènes qu'exogènes. Cette méthode s'est récemment révélée très intéressante pour l'étude de la différenciation

2.

cellulaire, de la composition de la surface des cellules vivantes et notamment de l'effet de l'interaction de ces mêmes cellules avec des antigènes. En particulier, elle se révèle particulièrement efficace pour l'identification des populations lymphocytaires sanguines chez l'homme sain et dans différents états pathologiques tels que leucémie, polyarthritique, cancer, en permettant dans ce dernier cas, des tests de détection précoce.

Les problèmes posés par cette méthode sont de divers ordres, les paramètres critiques étant essentiellement le nombre minimal de cellules requis pour effectuer une analyse et surtout la reproductibilité et la fiabilité de ces analyses, et donc des moyens utilisés pour ce faire.

Les méthodes expérimentales initiales, couramment encore pratiquées au stade de la recherche, consistent en une observation microscopique manuelle de cellules dans une chambre de mesure avec des électrodes y créant un champ électrique, et en une mesure une à une de ces cellules pour relever leur vitesse de déplacement. On conçoit que, quel que soit le type de chambre de mesure utilisée, cette méthode nécessite un temps considérable pour effectuer les mesures d'un grand nombre de cellules permettant seules l'obtention de résultats statistiquement exploitables. D'autre part, pour permettre des lectures efficaces, le volume de la suspension cellulaire nécessaire doit être relativement important (au moins 10^7 cellules).

C'est pourquoi, puisque cette technique vise à détecter une mobilité de cellules, il a été proposé récemment de mesurer cette mobilité par effet Doppler. En effet, si la chambre de mesure contenant les particules à tester est illuminée par une source de lumière, avantageusement cohérente, les particules qui, sous l'influence du champ électrique migrent vers une des électrodes, traversent le faisceau de lumière et provoquent alors un déplacement de la fréquence initiale de cette lumière. Cette nouvelle fréquence, ajoutée à celles de la lumière incidente, est détectée par un dispositif opto-électronique et donne un si-

gnal qui sera ensuite traité par un analyseur adapté, comprenant notamment un transformateur à série de Fourier, pour fournir un spectre de fréquences qui correspondra à la différence entre la fréquence initiale de la lumière incidente et la fréquence de la lumière déviée par les particules en mouvement. Dans le cas où les particules sont suffisamment grandes pour que la diffusion de la lumière soit négligeable, le spectre de fréquence Doppler ainsi obtenu est la représentation directe de la mobilité électrophorétique des particules testées suivant la formule :

$$\Delta v = \frac{2n}{\lambda} (\sin \theta/2) E.M.$$

avec

Δv = déplacement Doppler

15 E = champ électrique

M = mobilité électrophorétique

θ = angle d'observation par le dispositif opto-électronique

λ = longueur d'onde

20 n = indice de réfraction du milieu.

Pour séduisante qu'elle soit, cette mesure par analyse de fréquence se heurte aux phénomènes accompagnant la mesure de la mobilité électrophorétique des particules. En effet, dans une chambre de mesure fermée, contenant des particules en suspension soumises à un champ électrique, deux phénomènes apparaissent concomitamment, à savoir, bien sûr, le phénomène électrophorétique, mais également son corollaire, le phénomène électro-osmotique. On sait, depuis les travaux de Wiedemann, que l'électro-osmose est produite par une électrisation superficielle des parois des canaux dans lesquels s'écoule le liquide électrisé. Or, pour la mesure de la mobilité électrophorétique, tant manuelle que par analyse de fréquence, pour réduire la zone d'investigation de la chambre de mesure et, partant, le nombre de cellules ou de particules requis, utilisation est faite d'un capillaire ou, tout au moins d'une zone de lecture de très petites dimensions. Il résulte donc, dans le liquide

4.

à tester, en raison de l'effet combiné des phénomènes électrophorétique et électro-osmotique, un mouvement du liquide vers l'anode au niveau de la paroi interne du capillaire ou zone de mesure et un mouvement retour vers la cathode au centre du capillaire. Entre ces deux zones il existe une zone qui échappe à l'endosmose, où le mouvement est nul, appelée zone stationnaire. Pour la mesure de la mobilité vraie de chaque particule, on se situe donc, en mesure manuelle microscopique, en un endroit très précis de la zone stationnaire, mais il est clair que, pour une analyse par illumination et mesure de l'effet Doppler, la lumière incidente illumine la totalité des cellules se trouvant à l'intérieur du capillaire ou de la zone de lecture, de sorte que l'image finale reflète à la fois des mobilités vraies, les mobilités additionnées de l'écoulement osmotique au bord du capillaire et les mobilités diminuées par le retour de l'écoulement osmotique au centre du capillaire. Pour pallier ces inconvénients, il a été proposé des méthodes complexes de traitement des signaux, des analyses statistiques avec inversions d'écoulement, ou des lectures dans des systèmes ouverts s'écartant des conditions de capillaire, avec les inconvénients afférents de manque de précision de résolution et de reproductibilité.

La présente invention a précisément pour objet de proposer une cellule de mesure de mobilité électrophorétique de construction simple, d'utilisation aisée, éliminant les problèmes de circulation électro-osmotique et convenant tout particulièrement, en raison de ces qualités de reproductibilité et de faible inertie, pour une utilisation dans un dispositif automatique de micro-électrophorèse analytique autorisant des finesses de résolution jusqu'ici insoupçonnées.

La présente invention a pour autre objet un tel dispositif automatique de micro-électrophorèse analytique, permettant avec un personnel peu qualifié, d'obtenir des analyses particulièrement efficaces, pour une période de tests et d'analyses très courte, et offrant une reproduc-

5.

tibilité remarquable en ne nécessitant qu'un nombre très réduit de cellules-tests, convenant ainsi tout particulièrement au diagnostic précoce de cancer.

Pour ce faire, selon une caractéristique de la présente invention, une telle cellule, du type comprenant une zone de lecture transparente, deux électrodes de part et d'autre de la zone de lecture, et des moyens commandables d'amenée et d'évacuation d'une solution à tester dans la zone de lecture, comprend deux capillaires parallèles de diamètres différents, dont le plus petit définit la zone de lecture, reliant deux chambres opposées dans lesquelles sont disposées les électrodes.

Selon une autre caractéristique plus particulière de la présente invention, chaque chambre comporte, à son extrémité opposée à la face dans laquelle débouchent les deux capillaires, un passage de liquide de faible dimension se raccordant à une tubulure d'amenée ou d'évacuation de la solution à tester, ce passage de liquide étant prolongé par une zone profilée élargie formant siège pour une tige pointeau d'obturation sélectivement commandable.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention ressortiront de la description suivante de modes de réalisation, donnés à titre illustratif mais nullement limitatif, faite en relation avec les dessins sur lesquels :

La figure 1 représente schématiquement, partiellement sous forme de blocs, un dispositif automatique de microcytoélectrophorèse analytique selon la présente invention;

La figure 2 représente, en coupe longitudinale, un premier mode de réalisation d'une cellule de mesure selon la présente invention;

La figure 3 représente schématiquement les moyens d'obturation et de création de surpression associés aux tubulures d'amenée ou de sortie de la cellule de la figure 2;

La figure 4 représente, en coupe longitudinale,

un mode de réalisation préférentiel d'une cellule selon la présente invention;

La figure 5 est une vue schématique en perspective d'une électrode de la cellule de la figure 4;

5 La figure 6 est un graphe représentant le spectre de fréquence des globules rouges de sang humain obtenu par le dispositif de la figure 1;

10 Les figures 7 et 8 représentent respectivement, à titre comparatif, les résultats de lectures en électrophorèse manuelle et en électrophorèse automatique selon la présente invention des lymphocytes périphériques de sujets sains; et

15 La figure 9 représente, superposés, les spectres comparatifs des lymphocytes d'un sujet sain et d'un sujet cancéreux sous traitement.

20 Comme représenté sur la figure 1, le dispositif automatique de microélectrophorèse analytique est articulé autour d'une cellule de mesure 1 comprenant une chambre ou zone de lecture 2 dans laquelle est introduite une solution comportant, en suspension, les particules à tester, cette chambre étant illuminée par un laser 4 dont le faisceau émergeant est reçu par un dispositif opto-électronique 5, typiquement un photomultiplicateur à diodes, fournissant un signal électrique 6 qui sera analysé par des dispositifs

25 d'analyse et de traitement ainsi qu'on le verra plus loin.

30 Comme représenté sur la figure 2, une cellule de mesure selon la présente invention comprend essentiellement un premier capillaire de lecture 7 auquel est associé un second capillaire parallèle 8 de plus grand diamètre, ces deux capillaires étant formés dans un bloc de verre 9, ou dans deux blocs de verre accolés pour former une unité. Pour de meilleurs résultats, on utilisera du verre alcalin, mais en pratique, en raison du diamètre et des longueurs des capillaires, on utilisera un verre du type de celui

35 vendu sous l'appellation commerciale "Pyrex". Conformément à la présente invention, le rapport entre les diamètres respectifs ϕ_1 et ϕ_2 des capillaires 7 et 8 est compris en-

tre 1,50 et 1,60, le diamètre ϕ_2 du second capillaire 8 servant au retour du liquide étant typiquement 1,55 fois le diamètre ϕ_1 du capillaire de lecture 7. La longueur 1 des capillaires est également un facteur important et est
5 déterminée en fonction de l'intensité de courant appliquée à la solution. Cette longueur est comprise par exemple entre 20 et 30 mm, et dans un mode de réalisation préférentiel, pour une tension de 70 volts sous 4,5 milliampères appliqués aux électrodes, la longueur des capillaires 7 et
10 8 est de 25 mm, avec $\phi_1 = 610 \mu\text{m}$ et $\phi_2 = 950 \mu\text{m}$. La distance entre les capillaires est de l'ordre de 5 à 8 millimètres.

Dans le mode de réalisation de la figure 2, les capillaires 7 et 8 communiquent à chacune de leurs extrémités
15 avec des pré-chambres ou réservoirs de solution 10 et 11, séparées des chambres d'électrode correspondantes 12 et 13 par des parois poreuses en verres frittés 14 et 15, de porosité 4. Les chambres d'électrodes 12 et 13 ont une forme en L et reçoivent les électrodes 16 et 17 placées verticalement et supportées par des bouchons 18 et 19, fermant
20 de façon étanche la partie supérieure des chambres 12 et 13 et permettant de remplir celles-ci complètement avec une solution de KCl 1M. A la partie supérieure de la branche verticale du L, les chambres 12 et 13 comprennent chacune une
25 entrée 20, 21 fermée par un bouchon 22, 23 et destiné à permettre le remplissage des chambres, celles-ci comprenant à leur partie inférieure des sorties 24, 25 obturables par des bouchons, pour effectuer la vidange des chambres d'électrodes. Chaque chambre réservoir 10, 11 comporte un
30 embout 26, 27 pour recevoir à emmanchement un tube siliconé 28, 29 pour l'amenée et la sortie, dans les réservoirs 10, 11 et, partant, dans les capillaires 7 et 8, de la solution à tester.

Comme représenté sur la figure 3, à chaque tube
35 d'amenée ou de sortie 28, 29, est associé un dispositif à mâchoires pour fermer simultanément ou séquentiellement les deux tubes siliconés 28, 29 en permettant en outre d'appli-

8.

quer ainsi une surpression contrôlable à la solution contenue dans la cellule de lecture. Ce dispositif à mâchoires comprend par exemple un couteau 30 à extrémité en forme de V arrondi, interchangeable et susceptible de se déplacer
5 suivant un mouvement alternatif figuré par les flèches 31 pour venir presser et écraser le tube 28, 29 contre une contre-partie 31, 32 présentant une découpe en forme de V 33 correspondant à la forme du couteau 30.

Dans le mode de réalisation préférentiel représenté sur la figure 4, le bloc à capillaires 9 est monté
10 de façon étanche entre un bloc stationnaire 34 fixé sur un bâti 35, et un bloc mobile 36 monté de façon à pouvoir coulisser sur le bâti 35, comme figuré par les flèches 37, et susceptible d'être bloqué en position de contact contre
15 le bloc à capillaires 9 de façon à assurer l'étanchéité entre celui-ci et les blocs 35 et 36. A cet effet, ceux-ci comprennent, autour de la partie d'entrée des chambres internes 38, 39 dans lesquelles débouchent les capillaires 7 et 8, un évidement circulaire de plus grand diamètre formant
20 épaulement pour les joints d'étanchéité 40 et 41 pressés entre les extrémités longitudinales du bloc à capillaires 9 et les blocs 34, 36. Dans ce mode de réalisation, les électrodes sont directement placées dans les chambres internes 38, 39 au voisinage des faces du bloc à capillaires et s'étendent
25 chacune dans un plan sensiblement perpendiculaire à l'axe des capillaires 7 et 8. Pour offrir une surface d'échange maximale, sans gêner le passage de liquide, les électrodes 16', 17' présentent la forme d'un treillis, ou, de façon pratique, comme représenté sur la figure 5, une
30 forme en spirale à spires non-jointives.

Au centre de la paroi de chaque chambre interne 38, 39 opposée au bloc à capillaires 9 débouche un passage longitudinal de faibles dimensions 42, 43, respectivement, qui se prolonge, dans la direction opposée aux chambres internes 38, 39, par une partie divergeant en forme de cône
35 44, 45 formant siège d'obturation étanche pour une tige pointeau, 46, 47 coulisant dans un alésage coaxial au pas-

sage 42, 43 formé dans le bloc correspondant et étanchéifiée par des joints 48. Les tiges pointeaux sont actionnées par des bobines d'électro-aimants 49, montées en bout des blocs 34 et 36, à l'encontre de ressorts de rappel 50 tendant à ramener les tiges en position ouverte. Deux butées 51 solidaires des blocs 34 et 36 limitent la position d'ouverture des tiges pointeaux. Chaque bloc 34, 36 comporte un embout 52, 53, communiquant avec l'alésage des tiges pointeaux en amont des parties coniques formant siège 44 et 45 et
5 destiné à recevoir par emmanchement les tubulures d'amenée et de sortie 28, 29 de la solution à tester dans la cellule de mesure. Dans ce mode de réalisation, les tiges pointeaux sont conçues pour fermer simultanément ou séquentiellement les passages d'entrée et/ou de sortie 42, 43 des chambres
10 internes avant la mesure, en exerçant ainsi une surpression contrôlée de la solution à tester dans laquelle baignent les particules. Comme avec le mode de réalisation des figures 2 et 3, cette surpression, de l'ordre de 0,1 à 0,25 bar, permet de "figer" la solution échantillon dans la cellule de
15 mesure en établissant ainsi quasi-immédiatement la mobilité adéquate des particules en suspension dans la solution.

Comme précédemment mentionné, l'agencement de cellule de lecture selon la présente invention autorise la mise en oeuvre du dispositif automatique de microélectrophorese analytique représenté sur la figure 1. Outre les éléments constitutifs déjà mentionnés, on reconnaît, sur cette
25 figure, les canalisations ou tubulures d'amenée et de sortie 28, 29 à la cellule de lecture qui sont reliées à un dispositif répartiteur-distributeur 55 comprenant un jeu de clapets ou de valves distributrices 1_1 , 1_2 et 1_3 et des pompes
30 pour établir des communications sélectives entre une canalisation d'entrée d'échantillons 56 et une canalisation d'entrée de fluide de lavage/rinçage 57 et la tubulure d'amenée 28 de la cellule de lecture dans laquelle débouche la tubulure d'amenée 58 du fluide de lavage, d'une part, et la tubulure de sortie 29 de la cellule de lecture et une tubulure d'évacuation 59, d'autre part. La tubulure d'amenée
35

10.

d'échantillons 56 est reliée à un dispositif porte-échantillons 60 comprenant un barrillet distributeur 61 supportant les divers échantillons 62 à tester successivement dans le dispositif d'analyse.

5 Celui-ci comprend par exemple, en aval du photomultiplicateur 5, un amplificateur 63, un analyseur de spectre 64 et un dispositif de visualisation 65, par exemple un écran, associé, selon les besoins, à une table traçante ou à un enregistreur 66. Le dispositif comporte en outre une
10 unité de commande logique 67, pour commander séquentiellement, comme figuré par les liaisons le reliant aux divers éléments du dispositif, le dispositif porte-échantillon 60, les vannes 1_1 , 1_2 , 1_3 et les pompes du dispositif répartiteur-distributeur, et l'analyseur de spectre 64 ainsi que,
15 par la ligne 68, les bobines 49 ou le dispositif d'actionnement des mâchoires des moyens d'obturation des passages d'entrée ou de sortie de la cellule 1. Par la ligne 69, le bloc logique de commande 67 contrôle également un inverseur de polarité 70, disposé entre un générateur de courant constant 71 et les électrodes 18, 19 de la cellule de lecture.

20 On comprend donc qu'une séquence d'analyse s'effectue comme suit : un échantillon 62 à tester sur le barrillet 61 est amené dans la position A le faisant se déverser dans la canalisation 56 d'où il est dirigé par la tubulure d'amenée 28 dans la cellule de mesure. Les pompes d'amenée et d'évacuation du dispositif 55 peuvent être actionnées successivement et de façon inversée pour établir une circulation alternée de la solution dans les capillaires avant le verrouillage par les dispositifs d'obturation pour
30 stabiliser rapidement le contenu de la cellule. Le laser est ensuite déclenché et l'analyse spectrale s'effectue, le cas échéant en temps réel. Le contenu ainsi analysé de la cellule de lecture est évacué par les canalisations 29 et 59, et la cellule est rincée par le liquide de lavage amené par
35 les canalisations 57 et 58, éventuellement également, avec une circulation alternée, les vannes de commande des canalisations 56 et 59 étant alors fermées. Le liquide de lava-

11.

ge est à son tour évacué par les canalisations 29, 59 et un nouvel échantillon est amené dans la position I du barillet pour un cycle suivant. De façon pratique, mais non limitative, un cycle de lecture proprement dit s'effectue de la façon suivante : on effectue successivement, sous 5 contrôle du dispositif de commande 67, deux inversions de polarité des électrodes, le champ électrique étant appliqué pendant 12 secondes, soit pour deux aller-retour des polarités, une période de $4 \times 12 = 48$ secondes, suivie par 10 une période de 30 secondes de repos et une nouvelle période d'alternances de 48 secondes, à la suite de quoi la solution mesurée est évacuée. Le dispositif selon la présente invention permet ainsi, pour chaque échantillon, un cycle d'analyse de 3 minutes, soit, entre deux analyses, 15 un cycle complet de 5 minutes pour l'amenée, la lecture, le rinçage et l'évacuation.

Le dispositif selon la présente invention se caractérise par sa parfaite reproductibilité et la finesse extrême de sa résolution autorisant une identification 20 très poussée des familles de cellules. L'automatisation prend tout son sens en raison de la rapidité autorisée par l'analyse avec la cellule selon la présente invention et les réductions du volume de la suspension cellulaire nécessaire (10.000 cellules seulement dont environ 600 peuvent être analysées lors du cycle de lecture). On a représenté sur la figure 6, le spectre d'une solution de globules rouges de sang humain et l'on voit que la famille d'hématies se caractérise par un pic extrêmement prononcé à la fréquence de 12 Hz, avec une largeur de pic médiane 25 inférieure à 1 Hz et une résolution inférieure à 0,09 Hz, 30 pouvant descendre à 1/500e de Hz.

Les figures 7 et 8 illustrent comparativement les résultats d'analyses micro-électrophorétique d'une part manuelle, et d'autre part avec le dispositif selon la présente invention, avec des lymphocytes périphériques de 35 sujets sains, les deux courbes étant obtenues à partir du même échantillon lymphocytaire. Il faut noter que l'élec-

12.

trophorèse manuelle (figure 7) a nécessité un temps d'analyse de deux heures pour un dénombrement d'environ 120 cellules alors que l'électrophorèse automatique selon la présente invention a nécessité un temps de 2 minutes, intéressant une population de 600 lymphocytes. On notera que la séparation entre les populations de lymphocytes B et de lymphocytes T apparaît avec beaucoup de netteté sur le spectre de la figure 8, le calage du pic demeurant par ailleurs parfaitement reproductible dans le temps, ce spectre mettant en outre en évidence une séparation entre deux familles de lymphocytes T qui n'apparaît nullement sur le résultat des mesures de la figure 7.

Cette parfaite reproductibilité et stabilité des résultats d'analyses dans le temps permettent, précisément, d'effectuer des études comparatives d'échantillons lymphocytaires en vue de diagnostics immunologiques ou de leucémies. Sur la figure 9, la courbe en pointillé représente le spectre des lymphocytes périphériques d'un sujet malade, la courbe en trait continu, analogue à celle de la figure 8, correspondant à un sujet sain, la comparaison de ces deux courbes permet, notamment en ce qui concerne l'écroulement de la première famille de lymphocytes T de diagnostiquer immédiatement une modification importante des populations lymphocytaires qui, en l'absence de traitement, permet d'inférer des symptômes leucémiques ou cancéreux.

On comprendra que le dispositif selon la présente invention permet, en raison de sa souplesse et de sa précision, une détection précoce du cancer, détection d'autant plus précoce que la faible quantité de cellules requise pour une analyse exhaustive, qui peut descendre à 1 ou 2 cm^3 de sang, soit de l'ordre de 10.000 cellules, autorise une analyse en amont des voies sanguines par diagnostic direct des cellules de la moëlle osseuse.

Il va sans dire que les tests d'immunité cellulaire peuvent trouver également leur application dans toute maladie impliquant le système immunitaire, notamment les rhumatismes, les maladies allergiques, la tuberculose,

les scléroses multiples, ou encore certaines virozes. Enfin, le dispositif selon la présente invention peut trouver des applications de mesure de caractéristiques de particules dans des domaines tout à fait étrangers à la biologie proprement dite.

Le dispositif automatique décrit en relation avec la figure 1 n'est nullement limitatif, tout système de détection et d'analyse de signaux, de transcription de résultats, et de visualisation pouvant être utilisés en fonction des besoins particuliers, notamment en utilisant les méthodes de comptages de photons, et les techniques d'auto-corrélation. Le dispositif représenté sur la figure 1, utilise un laser TEM₀₀, HeNe de 0,5 milliwatt, le photomultiplicateur 5 comprenant un dispositif ajustable de lentilles optiques permettant de projeter ou d'agrandir l'image de la zone intérieure du capillaire de lecture 7 par où passe le faisceau laser, celui-ci étant focalisé dans la cellule de lecture par une lentille laser. La sortie du photomultiplicateur 5 passe par l'amplificateur 63 muni de filtres passe-bas et présentant un gain de 10 à 10.000, le signal entrant ensuite dans l'analyseur de spectre 64 qui est adapté pour une étude des faibles fréquences de l'ordre de 0 à 100 Hz avec un maximum de canaux disponibles. L'analyseur effectue la numérisation des signaux en provenance de l'amplificateur, l'analyse de Fourier du spectre et le présente sous forme de spectre de puissance avec la possibilité de cumuler un nombre important de ces spectres. Ceux-ci sont ensuite visualisés sur un écran 65 et, cumulés, sont transcrits sur une table traçante pour donner les courbes représentées sur les figures 8 et 9. Le dispositif à barrillet 60 est thermostaté de façon connue, pour garder les échantillons à une température constante, de même que la cellule de lecture 1 à laquelle peut être adjoind, également de façon classique, un détecteur de bulles pouvant arrêter le dispositif automatique.

Dans l'un ou l'autre des modes de réalisation des figures 2 à 5, les électrodes 16, 17, ou 16', 17' sont

14.

en platine et, avant d'effectuer un cycle de lecture, sont préparées par immersion pendant 24 heures dans un mélange à 37°C de 1 volume de HNO_3 et de 3 volumes de HCl , puis lavées dans de l'acide nitrique pur chaud et enfin dans de l'eau distillée. Le nettoyage cathodique avant platinisation consiste en une électrolyse faible dans de l'acide sulfurique dilué pendant environ 10 minutes. Après lavage dans de l'eau distillée, les électrodes sont platinées dans PtCl_2 , 2 % de HCl 2N pendant 12 heures avec une densité de courant de 0,5 mA/cm². Les électrodes sont ensuite lavées et peuvent être utilisées indéfiniment.

Quoique la présente invention ait été décrite en relation avec des modes de réalisation particuliers, elle ne s'en trouve pas limitée mais est au contraire susceptible de modifications et de variantes qui apparaîtront à l'homme de l'art.

REVENDICATIONS

1 - Cellule pour la mesure de la mobilité électrophorétique de particules en suspension dans un liquide, comprenant une zone de lecture transparente, deux électrodes de part et d'autre de la zone de lecture, et des moyens commandables d'amenée et d'évacuation d'une solution à tester dans la zone de lecture, caractérisée en ce qu'elle comprend deux capillaires (7, 8) parallèles de diamètres différents dont le plus petit (7) définit la zone de lecture, reliant deux chambres séparées (10, 38; 11, 39) dans lesquelles sont disposées les électrodes (16, 16'; 17, 17').

2 - Cellule selon la revendication 1, caractérisée en ce que le rapport des diamètres (ϕ_2/ϕ_1) des deux capillaires est de l'ordre de 1,50 à 1,60.

3 - Cellule selon la revendication 2, caractérisée en ce que la longueur (l) des deux capillaires est comprise entre environ 2 et 3 cm.

4 - Cellule selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que les moyens d'amenée et d'évacuation (28, 29) comprennent des moyens d'obturation réglables (30; 46, 47) conférant une légère surpression à la solution dans la cellule de mesure.

5 - Cellule selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que chaque chambre est constituée d'une pré-chambre réservoir (10, 11) dans laquelle débouchent les capillaires et les moyens d'amenée ou d'évacuation (28, 29) et une chambre d'électrode (12, 13) séparée de la pré-chambre réservoir par une paroi poreuse (14, 15) et équipée de moyens propres d'amenée (20, 21) et d'évacuation (24, 25) d'un liquide de remplissage de chambre d'électrode.

6 - Cellule selon la revendication 5, caractérisée en ce que les moyens d'amenée et d'évacuation de la solution à tester comprennent des tubulures souples (28, 29), les moyens d'obturation associés étant constitués d'une paire de mâchoires (30, 32) pour chaque tubulure.

7 - Cellule selon l'une quelconque des revendications

cations 1 à 4, caractérisée en ce que chaque chambre (38, 39) comporte, à son extrémité opposée à la face dans laquelle débouchent les capillaires, un passage de liquide (42, 43) de faibles dimensions se raccordant à une tubulure d'amenée ou d'évacuation de solution à tester.

8 - Cellule selon la revendication 7, caractérisée en ce que le passage de liquide est prolongé, dans la direction opposée aux capillaires, par une zone profilée élargie (44, 45) formant siège pour une tige pointeau d'obturation (46, 47).

9 - Cellule selon la revendication 8, caractérisée en ce que chaque électrode (16', 17') s'étend sensiblement dans un plan perpendiculaire à l'axe des capillaires entre les faces opposées de la chambre (38, 39) dans lesquelles débouchent respectivement les capillaires et le passage de liquide, cette électrode présentant des ouvertures traversantes de passage pour la solution.

10 - Cellule selon la revendication 9, caractérisée en ce que chaque électrode a une configuration en forme de spirale.

11 - Cellule selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que les capillaires (7, 8) sont formés dans une unité indépendante en verre (9), les chambres (38, 39) étant formées chacune dans un bloc de montage (34, 36) présentant un logement profilé pour recevoir de façon étanche une extrémité de l'unité en verre.

12 - Cellule selon la revendication 11, caractérisée en ce qu'un des blocs (34) est monté stationnaire sur un bâti (35), l'autre bloc (36) étant monté de façon coulissante et verrouillable sur ce bâti.

13 - Cellule selon la revendication 11 ou la revendication 12, dans leur rattachement à l'une des revendications 8 à 10, caractérisée en ce que les tiges pointeaux (46, 47) sont actionnées par des moyens électromagnétiques (49) montés sur les blocs (34, 36) à l'encontre de ressorts de rappel (50).

14 - Dispositif automatique de micro-électropho-

17.

rèse analytique utilisant une cellule selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisé en ce qu'il comprend un laser (4) pointé sur le capillaire fin de la cellule de lecture (1), un dispositif opto-électronique (5) couplé à des moyens de traitement et de visualisation (63, 64, 65) pour mesurer par effet Doppler la mobilité électrophorétique des particules.

15 - Dispositif selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il comporte en outre un dispositif répar-
10 titeur-distributeur (55) pour séquentiellement amener des échantillons (62) à tester présélectionnés à la cellule de lecture (1), les évacuer et rincer séquentiellement la cellule.

16 - Dispositif selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il comporte une unité de commande logique (67) pour commander les inversions des polarités des électrodes et le dispositif répartiteur-distributeur.

17 - Dispositif selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, caractérisé en ce que les moyens de
20 traitement comprennent un analyseur de spectre (64).